

苜草素对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力、脂质代谢及相关基因表达的影响¹

杨 玉 孙 煜 孙宝盛 卢营杰 李建慧 苗志强 张俊珍

(山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘 要: 本试验旨在研究不同水平苜草素对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力、脂质代谢及相关基因表达的影响。选用 69 周龄、健康海兰褐蛋鸡 324 只, 随机分为 3 组, 每组 6 个重复, 每个重复 18 只鸡。对照组饲喂基础饲粮, 试验组在基础饲粮的基础上添加 500 和 1 000 mg/kg 苜草素。试验预试验 2 周, 正试期 8 周。结果表明, 与对照组相比: 1) 试验组蛋鸡产蛋率显著升高 ($P<0.05$), 料蛋比显著降低 ($P<0.05$)。2) 500 mg/kg 苜草素显著增加了蛋壳强度 ($P<0.05$), 极显著降低了肝脏甘油三酯含量 ($P<0.01$), 显著降低了肝脏总胆固醇含量 ($P<0.05$)。3) 1 000 mg/kg 苜草素极显著提高了血浆谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 及肝脏 GSH-Px 活性 ($P<0.01$), 显著提高了血浆总抗氧化能力 (T-AOC)、降低了丙二醛(MDA)的含量 ($P<0.05$), 极显著降低了肝脏与蛋黄总胆固醇和甘油三酯含量 ($P<0.01$); 极显著提高了肝脏硫氧还蛋白还原酶 1 (*TrxR1*)、胆固醇-7 α 羟化酶 (*CYP7A1*)、固醇调节元件结合蛋白-1c (*SREBP-1c*) mRNA 表达量, 极显著降低了 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (*HMGCR*) mRNA 表达量 ($P<0.01$), 而对 *GSH-Px* mRNA 表达量无显著影响 ($P>0.05$)。由此可见, 饲粮中添加苜草素可降低产蛋后期蛋鸡蛋黄胆固醇和甘油三酯含量, 提高生产性能、蛋壳强度、机体抗氧化和胆固醇代谢能力, 且以添加 1 000 mg/kg 苜草素效果较好。

关键词: 苜草素; 产蛋后期蛋鸡; 抗氧化; 脂质代谢; 基因表达

中图分类号: S816.7

鸡蛋是最普通的日常食品, 但由于其胆固醇含量较高, 严重影响着人们对蛋与蛋制品的消费心理^[1]。苜草素中主要有效成分为黄酮($\geq 5\%$)、多糖($\geq 15\%$)和皂苷($\geq 5\%$), 黄酮、皂苷、多糖具有降血脂、抗动脉粥样硬化、提高机体抗氧化和免疫功能作用^[2-3]。研究表明, 饲粮添加不同水平的苜草素可以增强肉鸡肝脏和血清谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 降低血清丙二醛 (MDA) 含量, 使动物机体不被脂质过氧化物伤害^[4]。Deng 等^[5]研究发现, 含水苜草提取物能够显著降低血清和肝脏的总胆固醇 (TC) 以及蛋黄、血清和肝脏的脂质含量, 但对血清低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 含量无显著影响。Zhou 等^[6]进一步利用数字基因表达分析了苜草皂苷提取物降低蛋鸡胆固醇的效果, 发现添加 120 mg/kg 效果最好。另外发现, 饲粮中添加苜草素可以显著降低全蛋中的胆固醇

收稿日期: 2016-10-19

¹基金项目: 山西省科学技术发展计划项目 (201603D221033-1); 山西省现代农业鸡产业技术体系 (20161102); 山西农业大学博士科研启动基金(412559)

作者简介: 杨 玉(1963-), 女, 山西新绛人, 教授, 博士, 主要从事家禽营养研究。E-mail: sxauywd@126.com

和甘油三酯（TG）含量^[7]，其促进肉仔鸡生长以前期抑制、后期促进的规律出现^[8]，所以推测苜蓿素应该在生长周期长或有严重疾病隐患的情况下应用效果更为理想。苜蓿素兼有抗氧化与降低胆固醇的功效，但其研究主要集中在应用方面，对其抗氧化与降脂机理方面的研究较少。因此，本试验通过在饲料中添加不同水平的苜蓿素，探讨其对产蛋后期蛋鸡生产性能、抗氧化能力、胆固醇代谢及相关基因表达的影响，并对其分子机理做初步探讨，旨在确定其适宜添加水平，为开发饲料资源和蛋鸡产业的可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

试验于 2015 年 6 月 11 日至 2015 年 8 月 21 日在山西省大同市大同县建鑫养殖场和山西农业大学动物遗传育种与动物营养省级重点实验室进行。

1.2 试验材料与设计

试验用苜蓿素是一种从紫花苜蓿中提取的天然植物提取物，其有效成分为 15%多糖、5%黄酮、5%三萜皂苷，购自四川德阳三丰原科技股份有限公司。试验选用 69 周龄、健康的海兰褐蛋鸡 324 只，随机分为 3 组，每组 6 个重复，每个重复 18 只鸡。对照组饲喂基础饲料，试验组在基础饲料基础上分别添加 500 和 1 000 mg/kg 苜蓿素。试验预试验 2 周，正试期 8 周。基础饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)		%
项目 Items	含量 Content	
原料 Ingredients		
玉米 Corn	64.60	
豆油 Soybean oil	0.40	
豆粕 Soybean meal	23.10	
菜籽粕 Rapeseed meal	1.00	
碳酸氢钙 CaHPO ₄	1.29	
石粉 Limestone	8.70	
食盐 NaCl	0.21	
蛋氨酸 Met	0.06	
维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾	0.06	
维生素 E 粉 Vitamin E powder	0.01	
胆碱 Choline	0.15	
微量元素预混料 Trace mineral premix ²⁾	0.20	
小苏打 Baking soda	0.20	
壳红素 Shell red pigment	0.02	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient levels		

代谢能 ME/(MJ/kg)	11.29
粗蛋白质 CP	15.92
赖氨酸 Lys	0.71
蛋氨酸 Met	0.31
钙 Ca	3.73
磷 P	0.56

¹ 每千克维生素预混料含 Per kg of vitamin premix contains: 维生素 A 乙酸脂 retinol acetate 55 000 000 IU, VD₃ 13 500 000 IU, VE 50 000 mg, VK₃ 5 000 mg, VB₁ 5 000 mg, VB₂ 25 000 mg, VB₆ 14 000 mg, VB₁₂ 65 mg, 叶酸 folic acid 4 000 mg, 烟酰胺 nicotinamide 90 000 mg, D-泛酸钙 D-calcium pantothenate 32 000 mg, 生物素 biotin 100 mg。

² 每千克微量元素预混料含 Per kg of trace mineral premix contains: Mn (as manganese sulfate) 60 g, Fe (as ferrous sulfate) 60 g, Cu (as copper sulfate) 8 g, Se (as sodium selenite) 100 mg, Zn (as zinc sulfate) 60 g, I (as potassium iodide) 130 mg。

1.3 饲养管理

试验采用 3 层阶梯式笼养，每笼 3 只鸡，每天饲喂 4 次，自由采食和饮水，自然光照补充人工光照到 16 h，自然通风结合纵向负压通风，其他均按养殖场常规方法进行。

1.4 样品采集与制备

1.4.1 生产性能

试验期间每日记录各组的产蛋数、产蛋总重量，每 7 d 结料，记录各组耗料重，计算各组平均日采食量，然后以组为单位统计产蛋率和料蛋比。

1.4.2 蛋品质

试验第 14、28、42 和 55 天，每个重复随机抽取 3 枚鸡蛋测定蛋重、蛋形指数、蛋壳强度、蛋白高度、哈氏单位、蛋黄颜色、蛋壳厚度，取其平均值。试验结束时，每重复选取 2 枚鸡蛋称重，破壳后分离蛋清蛋黄，使用试剂盒测定蛋黄 TC 和 TG 的含量，试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.4.3 血浆及组织相关指标

试验结束时每重复随机选取 1 只健康状况良好且体重接近的蛋鸡，空腹翅静脉采血 5 mL，3 500 r/min 离心 10 min 制备血浆分装，-20℃保存。随后颈静脉放血致死，采用无菌操作迅速取出同一部位肝脏放入液氮中，置于-80℃待测。按照相应试剂盒测定血浆 GSH-Px 和总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性、总抗氧化能力（T-AOC）以及 MDA、TC、TG 含量以及肝脏 GSH-Px 活性、TC 和 TG 含量，试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.4.4 肝脏 RNA 提取和反转录

采用 Trizol 法提取肝脏组织 RNA。用 1% 琼脂糖凝胶电泳、核酸蛋白仪测定 RNA 完整性、浓度和纯度。按照反转录试剂盒说明合成 cDNA，-20℃保存备用。

1.4.5 引物设计

根据测序数据库中 GSH-Px、胆固醇-7α 羟化酶（CYP7A1）、固醇调节元件结合蛋白-1c（SREBP-1c）、硫氧还蛋白还原酶（TrxR）1、3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶（HMGCR）的序列，设计其引物（表 2），并由华大基因（北京）合成。

chinaXiv:201711.00889v1

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

目的基因	GenBank 登录号	引物序列	产物大小
Target genes	GenBank No.	Primers sequences	Product length/bp
谷胱甘肽过 氧化物酶 <i>GSH-Px</i>	NM_001277853	F:ACGGCGCATCTTCCAAAG R:TGTTCCCCCAACCATTCTC	73
胆固醇-7α羟 化酶 <i>CYP7A1</i>	NM_001001753	F:CCGAGTTGCTAAGGAGGATT R:CGTTGCGGTAGAAGTCAGTC	191
固醇调节元 件结合蛋白 -1c <i>SREBP-1c</i>	NM_204126	F:GCCCTCTGTGCCTTTGTCTTC R:ACTCAGCCATGATGCTTCTTCC	130
硫氧还蛋白 还原酶 1 <i>TrxR1</i>	NM_001030762	F:TACGCCTCTGGGAAATTCGT R:CTTGCAAGGCTTGTCCCAGTA	107
3-羟基-3-甲 基戊二酸单 酰辅酶 A 还 原酶 <i>HMGCR</i>	NM_204485	F:CTGCAGGAAACAATCTGGAC R:GCTTTGGTTGATGACTCTGCT	126
β-肌动蛋白 β-actin	X00182	F:TGCGTGACATCAAGGAGAAG R:TGCCAGGGTACATTGTGGTA	300

1.4.6 实时定量 PCR

以合成的 cDNA 为模板，按照 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒说明（购自大连 TaKaRa 有限公司），采用 20 μL 体系，在实时荧光定量 PCR 仪（美国 ABI 公司 7500）上进行。反应条件为：预变性 95 °C 30 s，聚合酶链式反应 95 °C 5 s，60 °C 34 s，共 45 个循环。溶解曲线分析程序为：95 °C 10 s, 60 °C 1 min，随后温度以 0.5 °C/10 s 速度上升至 95 °C。采用相对定量分析法，以 β-肌动蛋白（β-actin）作为内参基因，采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因 mRNA 表达量。

1.5 数据处理与统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行单因素方差分析（one-way ANOVA）。所有数据以“平均值±标准差”表示，用 Duncan 氏法比较各组之间指标差异，采用 LSD 法对差异显著的数据进行极显著差异比较。

2 结果与分析

2.1 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

由表 3 可知，饲料中添加苜蓿素显著提高了产蛋率、降低了料蛋比（*P*<0.05），其中以 1 000 mg/kg

组产蛋率最高（比对照组增加了 9.13%），料蛋比最低（比对照组降低了 5.98%），而平均蛋重与平均日采食量无显著差异（ $P>0.05$ ）。

表 3 苜草素对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

Table 3 Effects of polysavone on production performance of laying hens during late period of laying

组 别	产蛋率	平均蛋重	平均日采食量	料蛋比
Groups	Laying rate/%	Average egg weight/g	ADFI/g	Feed/egg
对照 Control	71.27±5.46 ^a	65.88±2.66	119.83±0.49	2.68±0.01 ^a
500 mg/kg	76.07±1.78 ^b	66.88±3.47	120.49±0.46	2.53±0.01 ^b
1 000 mg/kg	77.78±2.79 ^b	66.49±3.00	120.99±0.22	2.52±0.00 ^b

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），不同大写字母表示差异极显著（ $P<0.01$ ），无字母或相同小写字母表示差异不显著（ $P>0.05$ ）。下表同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference（ $P<0.05$ ）, with different capital letter superscripts mean significant difference（ $P<0.01$ ）, while with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference（ $P>0.05$ ）. The same as below.

2.2 苜草素对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

由表 4 可知，饲料中添加苜草素对蛋白高度、哈氏单位、蛋形指数、蛋黄颜色及蛋壳厚度无显著影响（ $P>0.05$ ），但对蛋壳强度有一定影响，其中以 500 mg/kg 组蛋壳强度最高且显著高于对照组（ $P<0.05$ ）。

表 4 苜草素对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

Table 4 Effects of polysavone on egg quality of laying hens during late period of laying

组 别	蛋白高度	哈氏单位	蛋形指数	蛋黄颜色	蛋壳强度	蛋壳厚度
Groups	Albumen height/mm	Haugh unit	Egg shape index	Yolk color	Egg shell strength/(kg/m ²)	Egg shell thickness/mm
对照 Control	4.78±1.39	61.11±14.76	1.34±0.07	5.58±1.17	2.59±0.62 ^a	0.36±0.03
500 mg/kg	5.29±1.21	68.81±9.77	1.32±0.07	5.70±1.61	3.20±0.68 ^b	0.32±0.13
1 000 mg/kg	4.75±1.85	64.06±17.73	1.35±0.07	5.81±1.63	2.64±0.59 ^a	0.36±0.03

2.3 苜草素对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响

由表 5 可知，与对照组相比，饲料中添加 1 000 mg/kg 苜草素极显著提高了血浆中 GSH-Px、T-SOD 及肝脏 GSH-Px 的活性（ $P<0.01$ ），显著提高了血浆中 T-AOC、降低了 MDA 的含量（ $P<0.05$ ）；添加 500 mg/kg 苜草素对血浆中 GSH-Px 活性、T-AOC、MDA 含量以及肝脏中 GSH-Px 活性无显著影响（ $P>0.05$ ），但极显著提高了血浆 T-SOD 活性（ $P<0.01$ ）。

表 5 苜草素对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响

Table 5 Effects of polysavone on antioxidant ability of laying hens during late period of laying

组别	血浆				肝脏
	Plasma				Liver
Groups	谷胱甘肽过氧化物酶	总抗氧化能力	总超氧化物歧化酶	丙二醛	谷胱甘肽过氧化物酶

	GSH-Px/ (U/mL)	T-AOC/(U/mL)	T-SOD/ (U/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/ (U/mL)
对照 Control	79.62±1.94 ^A	17.07±0.33 ^a	117.66±1.55 ^A	5.92±0.612 ^a	9.67±0.47 ^A
500 mg/kg	79.00±3.39 ^A	17.74±0.25 ^{ab}	120.76±0.52 ^B	4.29±0.38 ^{ab}	10.12±0.26 ^A
1 000 mg/kg	90.50±3.41 ^B	18.39±0.31 ^b	146.56±1.12 ^C	4.02±1.76 ^b	14.05±0.78 ^B

2.4 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡脂质代谢的影响

由表 6 可知，与对照组相比，饲料中添加 1 000 mg/kg 苜蓿素极显著降低了肝脏与蛋黄中 TC 和 TG 含量 ($P<0.01$)，添加 500 mg/kg 苜蓿素极显著降低了肝脏 TG 含量 ($P<0.01$)，显著降低了肝脏 TC 含量 ($P<0.05$)。饲料添加苜蓿素对血浆 TC 和 TG 含量无显著影响 ($P>0.05$)。

表 6 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡脂质代谢的影响

Table 6 Effects of polysavone on lipid metabolism of laying hens during late period of laying

组别 Groups	血浆		肝脏		蛋黄	
	Plasma/ (mmol/L)		Liver/ (mg/g)		Yolk/ (mg/g)	
	总胆固醇	甘油三酯	总胆固醇	甘油三酯	总胆固醇	甘油三酯
	TC	TG	TC	TG	TC	TG
对照 Control	3.16±0.06	16.64±1.59	11.86±0.49 ^{Aa}	26.74±0.55 ^A	13.37±0.57 ^A	219.58±13.00 ^A
500 mg/kg	2.99±0.32	17.09±0.38	9.95±0.65 ^{ABb}	23.38±0.87 ^B	13.02±0.22 ^A	211.35±11.79 ^{AB}
1 000 mg/kg	3.03±0.19	16.45±0.71	9.51±0.84 ^{Bb}	20.89±1.56 ^C	12.56±0.62 ^B	203.71±7.14 ^B

2.5 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡肝脏抗氧化、脂质代谢相关基因 mRNA 表达量的影响

由表 7 可知，与对照组相比，饲料中添加 1 000 mg/kg 苜蓿素极显著提高了肝脏 *TrxR1*、*CYP7A1*、*SREBP-1c* 的 mRNA 表达量 ($P<0.01$)，极显著降低了 *HMGCR* 的 mRNA 表达量 ($P<0.01$)，而对 *GSH-Px* 的 mRNA 表达量无显著影响 ($P>0.05$)。

表 7 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡肝脏抗氧化、脂质代谢相关基因 mRNA 表达量的影响

Table 7 Effects of polysavone on mRNA expression of genes related to antioxidant and lipid metabolism in liver of laying hens during late period of laying

组别	谷胱甘肽过氧化物酶	硫氧还蛋白还原酶	胆固醇-7 α 羟化酶	固醇调节元件结	3-羟基-3-甲基戊二酸单
Groups	<i>GSH-Px</i>	1 <i>TrxR1</i>	<i>CYP7A1</i>	合蛋白-1c	酰辅酶 A 还原酶
				<i>SREBP-1c</i>	<i>HMGCR</i>
对照 Control	1.00±0.16	1.00±0.16 ^A	1.00±0.27 ^A	1.00±0.11 ^A	1.00±0.09 ^A
1 000 mg/kg	1.16±0.33	2.05±0.43 ^B	2.47±0.10 ^B	3.34±0.55 ^B	0.50±0.06 ^B

3 讨 论

3.1 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

苜蓿素中主要活性成分为黄酮、多糖和皂苷。研究表明，饲料中添加 600 mg/kg 苜蓿素可显著降低料蛋比^[9]。Mansoub^[10]选用 500 只海兰 W-36 蛋鸡在其饲料中添加 100、150 和 200 mg/kg 苜蓿素，发现

200 mg/kg 组产蛋率和产蛋量最高, 而 150 mg/kg 组饲料转化率最高。谢泰华^[11]分别在产蛋前期和产蛋后期蛋鸡饲料中添加 500 和 1 000 mg/kg 苜蓿素, 发现可显著提高产蛋前期蛋鸡产蛋率和平均蛋重, 降低平均日采食量和料蛋比, 提高产蛋后期蛋鸡产蛋率、降低料蛋比, 但对平均蛋重和平均日采食量无显著影响。本试验结果表明, 添加苜蓿素显著提高了蛋鸡的产蛋率, 降低了料蛋比, 与上述结果基本一致, 并且延缓了 71 周龄以后蛋鸡产蛋率下降趋势。原因可能是苜蓿中的黄酮刺激腺垂体释放卵泡刺激素和黄体生成素, 继而促进了卵泡的生长和成熟及卵巢颗粒细胞的生长和增殖, 进而提高了产蛋率^[12]。

3.2 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

评价蛋品质的主要指标包括蛋壳厚度、蛋壳强度、蛋形指数、蛋白高度、哈氏单位和蛋黄颜色等。蛋壳强度和蛋壳厚度直接影响鸡蛋的破损率, 哈氏单位直接反映鸡蛋新鲜程度及蛋白品质^[13]。研究表明, 试验后期苜蓿素可显著提高蛋壳强度, 而蛋壳厚度几乎不受影响^[11]。侯永刚等^[14]研究发现, 饲料中添加 60 mg/kg 苜蓿皂苷, 除了降低蛋黄和全蛋胆固醇含量外, 还显著提高蛋壳厚度、且哈氏单位最高。梁轩等^[15]的研究发现, 在饲料中添加苜蓿素对蛋品质各指标产生影响, 但没有一定规律性。本研究表明, 添加苜蓿素后蛋壳强度有不同程度增强, 但蛋壳厚度无规律性变化, 原因可能是苜蓿素中的苜蓿皂苷促进了蛋壳腺的分泌, 多糖可能通过调节钙离子浓度, 促进了肠道钙离子的吸收^[16]。虽然哈氏单位无显著变化但有增高趋势, 说明苜蓿素中的活性物质增强了鸡蛋蛋白质代谢, 从而提高了蛋白质的沉积^[17]。

3.3 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡血浆、肝脏抗氧化能力及相关基因表达的影响

机体抗氧化能力是影响动物健康的重要因素, 而体内 GSH-Px、T-SOD、T-AOC、MDA、TrxR 等指标均反映机体抗氧化能力。研究表明, 苜蓿中的活性物质有增强血清抗氧化性、降低 MDA 含量以及预防心血管疾病等作用, 添加不同水平的苜蓿总甙可以增强肉鸡肝脏和血清 GSH-Px 活性, 降低 MDA 含量, 使动物机体不被脂质过氧化物伤害^[4]。本研究表明, 饲料中添加 1 000 mg/kg 苜蓿素极显著或显著提高了血浆 GSH-Px、T-SOD 活性和 T-AOC 以及肝脏 GSH-Px 活性和 TrxR1 mRNA 表达量, 降低了血浆 MDA 的含量, 具有提高肝脏 GSH-Px mRNA 表达量的趋势, 表明饲料中添加苜蓿素可通过提高抗氧化基因在机体中的表达量增强机体抗氧化能力。

3.4 苜蓿素对产蛋后期蛋鸡脂质代谢的影响

禽类的胆固醇主要在肝脏合成, 蛋黄几乎包含了鸡蛋中的全部胆固醇。研究表明, 皂苷作为苜蓿素中主要活性物质, 可降低胆汁在肠道中的吸收, 随着胆固醇排泄量增加, 鸡蛋中胆固醇沉积量随之下降^[18]。在饲料中添加 1 000 mg/kg 苜蓿素可显著降低 58~65 周龄海兰褐鸡蛋蛋黄甘 TG 含量^[7], 添加 500 mg/kg 苜蓿素, 肉仔鸡血清 TG 和 TC 含量显著降低^[3]。本研究表明, 饲料中添加 1 000 mg/kg 苜蓿素极显著降低了蛋黄中 TC 和 TG 含量, 而对血浆 TC 和 TG 含量无显著影响, 说明苜蓿素对蛋鸡血液 TC 与蛋黄胆固醇的作用没有必然相关关系^[19]。原因可能是鸡蛋胆固醇含量由蛋黄中的脂蛋白含量决定, 而不是由血液胆固醇含量决定, 因此血液中胆固醇含量的增加或降低, 并不影响蛋中胆固醇含量的变化趋势^[20]。

研究表明, *CYP7A1* 是胆汁酸合成的限速酶, 对维持机体胆固醇稳定具有重要作用。*SREBP-1c* 基因属于固醇调节元件结合蛋白家族, 当体内胆固醇含量较高时, 可促进脂肪酸生成并与胆固醇合成胆固醇酯, 从而消耗胆固醇^[21]。*HMGCR* 是内源胆固醇合成过程中的限速酶^[22-23], 如果抑制了 *HMGCR* 活性, 机体内源性胆固醇合成则减少。Zhou 等^[6]通过数字基因表达谱技术评估苜蓿皂苷提取物降低鸡蛋胆固醇含量的分子机理, 发现饲喂 120 mg/kg 苜蓿皂苷 60 d 后蛋黄胆固醇含量持续下降, 且上调了蛋鸡肝脏 *CYP7A1* 基因表达量。李宁等^[1]在饲料中添加苜蓿素, 发现添加 600、900、1 200 mg/kg 苜蓿素显著降低了蛋鸡肝脏 *HMGCR* mRNA 表达量, 通过调控 *HMGCR* mRNA 的表达可以控制血清和蛋黄中的胆固醇含量。本研究发现, 饲料中添加苜蓿素显著提高了蛋鸡肝脏 *CYP7A1* 与 *SREBP-1c* mRNA 表达量, 降低了 *HMGCR* mRNA 表达量, 从而推测苜蓿素降低肝脏 TC 和 TG 含量、导致蛋黄 TC 和 TG 含量降低的原因, 可能是通过促进胆固醇排泄、抑制胆固醇合成及影响胆固醇逆转运这几种途径发挥作用。

4 结 论

饲料中添加苜蓿素可降低产蛋后期蛋鸡蛋黄 TC 和 TG 含量, 提高生产性能、蛋壳强度、机体抗氧化和胆固醇代谢能力, 其适宜添加水平为 1 000 mg/kg。

参考文献:

- [1] 李宁,刘鑫,曲正祥,等.苜蓿素对蛋鸡胆固醇代谢的影响及其基因调控机制[J].动物营养学报,2016,28(5):1558–1565.
- [2] 赵武述,张玉琴,任丽娟,等.苜蓿多糖的免疫增强效应[J].中国药理学报,1993,14(3):273–276.
- [3] 董晓芳,江勇,高微微,等.苜蓿素对肉仔鸡免疫、内分泌和脂类代谢的一些指标的影响[J].动物营养学报,2007,19(4):407–410.
- [4] 张勇.苜蓿总甙对肉仔鸡胴体品质、血脂及抗氧化性能的影响[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2003:1–33.
- [5] DENG W,DONG X F,TONG J M,et al.Effects of an aqueous alfalfa extract on production performance,egg quality and lipid metabolism of laying hens[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2012,96(1):85–94.
- [6] ZHOU L,SHI Y H,GUO R,et al.Digital gene-expression profiling analysis of the cholesterol-lowering effects of alfalfa saponin extract on laying hens[J].PLoS One,2014,9(6):e98578.
- [7] 张丽娜.苜蓿素对蛋鸡生产性能及其鸡蛋与组织脂质的影响[D].硕士学位论文.扬州:扬州大学,2010.
- [8] 佟建明,董晓芳,邓文.家禽免疫营养学研究热点与展望[J].中国家禽,2008,30(3):1–4.
- [9] 杨长进,董晓芳,佟建明,等.苜蓿素对产蛋高峰期蛋鸡脂肪肝出血综合征预防作用研究[J].动物营养学报,2015,27(7):2184–2192.
- [10] MANSOUB N H.Effect of different level of alfalfa extract on performance,egg quality and some blood parameters of laying hens[J].Annals of Biological Research,2011,2(6):384–388.

- [11] 谢泰华.苜蓿素对蛋鸡生产性能、蛋品质和血脂指标的影响[D].硕士学位论文.福州:福建农林大学,2009.
- [12] PALMER S S,BAHR J M.Follicle stimulating hormone increases serum oestradiol-17 β concentrations,number of growing follicles and yolk deposition in aging hens (*Gallus gallus domesticus*) with decreased egg production[J].British Poultry Science,1992,33(2):403–414.
- [13] 刘红南,滕楠,李垚,等.饲粮添加槲皮素对蛋鸡蛋品质和蛋组分的影响[J].动物营养学报,2014,26(8):2246–2252.
- [14] 侯永刚.苜蓿皂甙对蛋鸡生产性能、胆固醇及肠道主要菌群的影响[D].硕士学位论文.保定:河北农业大学,2009.
- [15] 梁轩,刘福柱,沈伟.家禽营养与微量元素硒[J].饲料博览,2000(9):22–23.
- [16] 辛小青,董晓芳,佟建明.饲粮添加不同水平苜蓿粗多糖对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[J].动物营养学报,2016,28(8):2465–2475.
- [17] 陈秋丽,邓伟国,王毅.红景天皂苷对雌性大鼠蛋白质和脂肪代谢的影响[J].吉林大学学报:医学版,2003,29(4):411–413.
- [18] FRANCIS G,KEREM Z,MAKKAR H P S,et al.The biological action of saponins in animal systems:a review[J].British Journal of Nutrition,2002,88(6):587–605.
- [19] XU X J,HU Y B,XIAO W J,et al.Effects of fermented *Camilla sinensis*,Fuzhuan tea,on egg cholesterol and production performance in laying hens[J].Herald Journal of Agriculture and Food Science,2012,1(1):5–10.
- [20] GRIFFIN H D,WHITEHEAD C C,BROADBENT L A.The relationship between plasma triglyceride concentrations and body fat content in male and female broilers-a basis for selection?[J].British Poultry Science,1982,23(1):15–23.
- [21] 魏宁波,刘红云,汪海峰,等.固醇调控元件结合蛋白在胆固醇代谢中作用机制的研究进展[J].中国畜牧杂志,2013,49(5):80–84.
- [22] BJARNADOTTIR O,ROMERO Q,BENDAHL P O,et al.Targeting HMG-CoA reductase with statins in a window-of-opportunity breast cancer trial[J].Breast Cancer Research and Treatment,2013,138(2):449–508.
- [23] YEGANEH B,WIECHEC E,ANDE S R,et al.Targeting the mevalonate cascade as a new therapeutic approach in heart disease,cancer and pulmonary disease[J].Pharmacology & Therapeutics,2014,143(1):87–110.

Effects of Polysavone on Antioxidant Ability and Lipid Metabolism and Related Gene Expression of Laying Hens during Later Period

YANG Yu SUN Yu SUN Baosheng LU Yingjie LI Jianhui MIAO Zhiqiang ZHANG Junzhen
(College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taiyu 030801, China)

Abstract: This experiment was to investigate the effects of different dietary polysavone supplemental

levels on the antioxidant ability, lipid metabolism and related gene expression of laying hens during later period. Totally, three hundred and twenty-four Hy-Line Brown hens at 69-week old were randomly divided into 3 groups with 6 replicates and there were 18 hens for each replication. The hens in control group were fed a basal diet, and the two others were fed the basal diet supplemented with polysavone at the levels of 500 and 1 000 mg/kg. The preliminary experiment was lasted for 2 weeks and the formal experiment lasted for 8 weeks. The results showed that compared with the control group, 1) dietary supplementation with polysavone significantly increased the laying rate and reduced the feed to egg ratio ($P<0.05$). 2) The diet supplemented with 500 mg/kg polysavone significantly increased the eggshell strength ($P<0.05$), decreased the liver triglyceride content ($P<0.01$) and the cholesterol content ($P<0.05$). 3) The diet supplemented with 1 000 mg/kg polysavone extremely significantly increased the activities of plasma glutathion peroxidase (GSH-Px), total superoxide dismutase (T-SOD) and liver GSH-Px activity, as well as the expression quantity of thioredoxin reductase (*TrxR1*), cholesterol alpha-hydroxylase (*CYP7A1*) and sterol regulatory element binding protein-1c (*SREBP-1c*) ($P<0.01$) and the plasma total antioxidant capacity (T-AOC) ($P<0.05$), also extremely significantly reduced the malondialdehyde (MDA) content in plasma ($P<0.05$), contents of total cholesterol and triglyceride in liver and egg yolk and the expression quantity of 3-hydroxy-3-methyl glutaric acid acyl coenzyme A reductase (*HMGCR*) ($P<0.01$). However, the addition of polysavone at the level of 1 000 mg/kg had no effects on the expression quantity of *GSH-Px* ($P>0.05$). It can be concluded that the moderate concentrations of polysavone can reduce the cholesterol and triglyceride content in egg yolk, increase the growth performance, eggshell strength, antioxidant and lipid metabolism capacity of Hy-Line Brown hens and the 1 000 mg/kg polysavone is suggested as the optimal dosage in this study.

Key words: laying hens; polysavone; antioxidant; lipid metabolism; gene expression

i

ⁱ Author, YANG Yu, professor, E-mail: sxauywd@126.com

(责任编辑 田艳明)